Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität München
Direktor: Professor Dr. A. Schittenhelm

Über die Ursachen der Unterschiede in den Ergebnissen der Bilirubinbestimmung im Serum nach Hijmans van den Bergh und Jendrassik und Cleghorn

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfaßt und einer

Hohen Medizinischen Fakultät der Bayerischen Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Nikolaus Sereslis

München 1938
Universitäts-Buchdruckerei Dr. C. Wolf & Sohn

Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität München
Direktor: Professor Dr. A. Schittenhelm

Über die Ursachen der Unterschiede in den Ergebnissen der Bilirubinbestimmung im Serum nach Hijmans van den Bergh und Jendrassik und Cleghorn

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfaßt und einer

Hohen Medizinischen Fakultät der Bayerischen Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Nikolaus Sereslis

München 1938
Universitäts-Buchdruckerei Dr. C. Wolf & Sohn

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Referent:

Professor Dr. *A. Schittenhelm*

Tag der mündlichen Prüfung:

18. Juli 1938

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Dem Andenken
meines lieben Vaters
gewidmet

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548309_0019

Schon *Pröscher* wollte die von *Ehrlich* und ihm gefundene Reaktion des Bilirubins mit Diazoniumlösung bei saurer Reaktion unter Bildung eines Azofarbstoffes zur quantitativen Bestimmung des Bilirubins im Serum benutzen. Jedoch wurde von ihm eine solche Methode nie veröffentlicht. *Hijmans van den Bergh* hat nun diese Reaktion zu einer „quantitativen Schätzung" des Bilirubins im Serum ausgearbeitet. Schon diese Bezeichnung läßt erkennen, daß ihm Fehlerquellen sehr wohl bewußt waren und er weist selbst darauf hin, daß in manchen Fällen sehr viel Bilirubin im Eiweißniederschlag mitgerissen wird. *Thannhauser* und *Andersen* haben eine Verbesserung der Methode angestrebt. Da oft zwischen der Bilirubininstandardlösung nach *Hijmans van den Bergh* und der Farbe nach Anstellung der Reaktion im Serum infolge verschiedener H-Jonenkonzentration keine wirkliche Farbgleichheit zu erzielen ist, bringen sie beide Lösungen durch Zusatz eines Überschusses von Mineralsäure auf gleiche H-Jonen-Konzentration. Die Absorption wollen sie dadurch verhindern, daß sie zuerst diazotieren und erst hinterher die Enteiweißung vornehmen, da im Gegensatz zu Bilirubin seine Diazoverbindung von dem ausgefällten Eiweiß nicht mehr oder zum mindesten bei weitem nicht mehr so stark absorbiert wird. Auch *Meulengracht* weist eindringlich darauf hin, daß der Eiweißniederschlag oft einen bedeutenden Teil des Farbstoffes mit sich reißt und außerdem, daß dieser Teil sehr verschieden ist, so daß in manchen Fällen bis über die Hälfte, in anderen nur minimal mitgerissen wird. Er gab dann eine vereinfachte kalorimetrische Methode an, bei welcher die Farbe des Serums bzw. Plasmas direkt mit einer haltbaren Standardfarbe verglichen wird und zwar mit einer Bichromatlösung. Er nimmt dabei an, daß die anderen gelben Farbstoffe, die auch im Serum vorkommen, oder vorkommen können, wie z. B. Lutein, Lipochrom, Carotin usw. keine wesentliche Rolle spielen. *Ernst* und *Förster* modifizierten dieses Verfahren etwas. Ganz richtig wendet *Chro-*

metzka dagegen ein, daß der Vorgang der Kalorimetrie zu diffizil ist im Hinblick auf die geringen Farbnuancen der Eigenfärbung des Serums. Allerdings muß man einräumen, daß wenigstens die gröbsten Fehler, die durch das Mitreißen im Eiweißniederschlag entstehen, ausgeschaltet sind.

Alle weiteren Bestrebungen nach Verbesserung der Methode nach *Hijmans van den Bergh* laufen in der Hauptsache darauf hinaus, diese einmal erkannten Fehler auszumerzen. *Adler* und *Strauß* fanden als Katalysator Coffein-Natriumbenzoat, das in dem Verfahren von *Enriquez* und *Sivo* von diesen zur quantitativen Bestimmung des Bilirubins benutzt wurde. Auf demselben Prinzip beruht die Methode, die *Jandrassik* und *Czike* mitgeteilt haben und die dann von *Heilmeyer* und *Krebs* für das Pulfrich'sche Stufenphotometer umgearbeitet wurde. *Hijmans van den Bergh* und *Grotepaß* suchten selbst nach einer Verbesserung und lehnten sich dabei in großen Zügen an das Verfahren von *Thannhauser* und *Andersen* an.

Trotz der also längst erkannten Tatsache, daß die Fehler nach der alten Hijmans van den Bergh-Methode durch die Verluste im Eiweißniederschlag ungewöhnlich hoch sein können, hat sich diese Methode in den Laboratorien geradezu festgefressen. Dies dürfte aber am meisten damit zusammenhängen, daß die quantitative Bestimmung des „indirekten" Bilirubins sehr oft gekuppelt wird mit dem qualitativen Nachweis der „direkten" Probe. Diese letztere gibt aber, wenn ihr Wesen auch noch nicht geklärt ist und ihre Verwertbarkeit auch vielfach bestritten wird, doch oft einen diagnostischen Hinweis. Weiterhin war im Verein mit der direkten Probe, wie sie in der Schittenhelm'schen Klinik schon seit Jahren durchgeführt wird, das Verfahren klinisch durchaus brauchbar, wenn man auf kleinere Schwankungen, deren Erfassen für wissenschaftliche Arbeiten notwendig ist, nicht unbedingt Wert legt und wenn man von den Fällen, bei denen eine braune Farbe die Ablesbarkeit unmöglich macht und weiterhin von den Krankheitsbildern, bei denen der klinische Befund und die chemische Bestimmung stark von einander abweichen, absieht.

Aber gerade diese Fälle führen sehr oft zu größtem Mißtrauen gegenüber dem Laboratorium, da auf Station der Kranke noch mit allen Zeichen des Ikterus bei Gelbfärbung von Haut und Skleren, Hautjucken usw. liegen kann, ja nicht selten der Urin noch einen positiven Bilirubinbefund zeigt und aus dem Laboratorium schon fast normale Bilirubinwerte kommen, die zwar meist noch von einer positiven direkten Probe begleitet sind, aber in manchen Fällen sogar dieses Zeichen einer noch bestehenden Schädigung vermissen lassen. Letzteres tritt besonders ein, wenn man sich auf die ursprüngliche Fassung, daß nach 30 Sekunden der Grad der direkten Probe bestimmt wird, verläßt und nicht richtiger, wie *Chrometzka*, unterscheidet zwischen direkter Spur, zweiphasisch verzögert, verzögert, zweiphasisch prompt und prompt, ausgedrückt in +—, (+), +, ++, +++. Die Folge davon ist eine oft unnötige Kontrolle des Bilirubinspiegels mit der beim Kranken nicht gerade beliebten wiederholten Blutentnahme, die trotzdem keinerlei Klärung bringen kann, da die Fehler in der Methode selbst liegen und nicht an der schlechten Ausführung im Laboratorium.

Fast regelmäßig machten wir die Beobachtung dieses Mißverhältnisses zwischen klinischen und Laboratoriumsbefunden bei abklingendem Ikterus, besonders nach Ikterus gravis oder simplex. Wir waren gerade daran, ein Verfahren auszuarbeiten, das diese Hauptfehler ausmerzt, da erschien die photometrische Bilirubinbestimmung von *Jendrassik* und *Cleghorn*, die wir auf Grund unserer Erfahrungen heute schon als die Methode der Wahl ansprechen möchten, wenn es sich darum handelt, wirklich den absoluten Bilirubingehalt im Serum festzustellen.

Das Prinzip der Methode ist kurz folgendes: Mit Serum wird, ohne zu enteiweißen, die Diazoreaktion angestellt bei Gegenwart von Coffein-Natriumbenzoat und Natriumazetat. Die Ablesung erfolgt im Pulfrich'schen Stufenphotometer im Grünlicht (Filter S 53) und im Violettlicht (Filter S 43) gegen eine Serumverdünnung ohne Diazo bei 1 cm Schichtdicke. Die Umrechnung erfolgt nach der Formel

$$C = 5{,}62 \cdot G - 1{,}12 \cdot (V - 0{,}03)$$

wobei c die Konzentration in Milli/% = mp ist (*Jendrassik* tritt für diese Bezeichnung ein statt dem gebräuchlichen aber unlogischen mg%).

G der im Grünlicht S 53 erhaltene Extinktionskoeffizient, V der im Violettlicht S. 43 erhaltene.

Coffein-Natriumbenzoat und Natriumazetat wirken als Katalysatoren, Natriumazetat außerdem als Puffer für das indikatorartige Azobilirubin; es verhindert weiterhin das Ausfallen von Benzoesäure. Die Ablesung gegen eine Serumverdünnung ohne Diazomischung erfolgt, um Lipochrome und ähnliche Serumfarbstoffe auszuschalten. Die Ablesung im Violettlicht dient zur Ausschaltung einer Braunfärbung, wie sie in pathologischen Fällen, besonders bei Nierenkranken, vorkommt. Es handelt sich in letzteren Fällen wahrscheinlich um den von *Andrewes* beschriebenen Farbstoff, der in der Schittenhelm'schen Klinik von *Chrometzka* eingehend untersucht wurde und in Seren bei Niereninsuffizienz entzündlich schrumpfender Natur vorkommt. Im Zusammenhang damit möchten wir bemerken, daß wir einmal eine etwas abweichende Beobachtung machen konnten. Die Braunfärbung war im Niederschlag nach Enteiweißen mit Uranylazetat und Phosphorwolframsäure, im Filtrat nach Enteiweißen mit Alkohol oder Trichloressigsäure aufgetreten. Bei Anstellung der Xanthoproteinreaktion nach *Becher*, wobei bekanntlich mit Trichloressigsäure enteiweißt wird, war dieses Filtrat verhältnismäßig stark braun und wir bekamen nach Anstellen der Reaktion ungewöhnlich hohe Werte, viel höher als nach dem klinischen und den anderen Blutbefunden, wie Reststickstoff, Harnsäure und Indikan, zu erwarten gewesen wäre.

Die Vorteile der Bilirubinbestimmung im Serum nach *Jendrassik* und *Cleghorn* sind klar ersichtlich. Es fällt das Enteiweißen weg und die dadurch oft erheblichen Verluste an Bilirubin im Eiweißniederschlag, besonders bei hohen Bilirubinwerten und bei Seren, die nach *Hijmans van den Bergh* direkt positiv sind. Andere Farbkomponenten, z. B. die „urämische Reaktion", werden ausgeschaltet, ja es kann sogar der Wert dieser Braunfärbung durch Filter S 43 ungefähr ermittelt werden. Weiterhin kann auch das direkte Bili-

rubin quantitativ erfaßt werden, wenn man die Reaktion ohne Coffein-Katalysator ausführt und immer nach einer ganz bestimmten Zeit, z. B. 5 Minuten, abliest. Es fallen auch Fehlerquellen weg, die durch ein Abblassen des Vergleichskeiles, wie er heute meist benutzt wird, bedingt sind. Die zuletzt genannten Vorteile, die ja gegenüber den Verlusten durch den Eiweißniederschlag ganz in den Hintergrund treten, können naturgemäß nur bei Benutzung des Stufenphotometers erzielt werden. Da jedoch für kleinere Laboratorien die Anschaffung eines solchen immer noch eine ziemliche Belastung darstellt, erscheint, wie uns *Jendrassik* brieflich mitteilte, in kurzer Zeit eine Beschreibung der Methode für die üblichen Kalorimeter nach *Autenricht* und *Dubosque*. Die Vorzüge des Stufenphotometers gehen besonders aus diesen Bestimmungen klar hervor.

Wir haben bei einer großen Reihe von Seren der Kranken unserer Klinik das Bilirubin nach den Methoden von *Hijmans van den Bergh* direkt und indirekt und nach *Jendrassik* und *Cleghorn* bestimmt. Die nachfolgende Tabelle ergibt im Auszug die gefundenen Zahlen an.

Tabelle I.

Lfd. Nr.	Klinische Diagnose	Hijmans van den Bergh		Jendrassik und Cleghorn
		direkt	indirekt	
1	Enteritis	—	1,04	1,07
2	Pyonephrose	—	0,26	0,24
3	Anaemie	—	0,32	0,29
4	Diabetes mellitus	—	0,20	0,32
5	Eckzem	—	0,25	0,72
6		—	0,22	0,63
7		—	0,16	0,72
8		—	0,20	0,76
9	Trigeminusneuralgie. . . .	—	0,57	0,88
10	Tabes dorsalis	—	0,25	0,80
11	Diabetes mellitus	—	0,20	0,70
12	Cystitis	—	0,30	0,79
13	Banti	—	0,37	0,56

Lfd. Nr.	Klinische Diagnose	Hijmans van den Bergh		Jendrassik und Cleghorn
		direkt	indirekt	
14	Pleuritis	—	0,20	0,65
15	Adipositas	—	0,29	0,63
16	Ak. lymgh. Leukämie . . .	—	0,25	0,62
17	Hyperthyreose	—	0,20	0,61
18	Pankreatitis	—	0,21	0,78
19	Paratyphus	—	0,19	0,71
20	Arteriosklerose	—	0,23	0,63
21	Akute Gelenkrhem.	—	0,25	0,99
22	Hyperthyreose	—	0,25	1,40
23	Urämie	Wegen Braunfärbung nicht bestimmbar		1,00 0,69 0,52 0,95 0,58
24	Magen-Carcinom.	—	0,37	1,71
25	Menière?.	—	0,59	2,64
26	Darmspasmen	—	0,16	1,16
27	Magen-Darmbeschwerden . .	—	0,76	2,70
28	Hyperthyreose	—	0,52	1,06
29	Magenbeschwerden	—	0,33	1,17
30	Perniciosa	—	0,59	1,78
31	Abklingender Ikterus . . .	—	0,54	1,55
32	„ „	—	0,62	2,20
33	„ „	—	0,25	1,35
34	„ „	—	1,52	2,60
35	Hyperthyreose	—	0,57	1,38
36	Herzinsuffizienz	—	0,78	1,60
37	Thrombophlebitis	—	1,20	1,73
38	Helminthiasis	—	1,61	2,69
39	Typhusverdacht	—	1,09	3,66
40	Lebercirrhose	—	1,09	2,51
41	Haemolytischer Ikterus. . .	—	1,50	8,50
42	Cholecystitis	—	0,87	3,36
43	Lebercirrhose	—	1,09	2,00
44	Aortenstenose	—	0,97	3,69
		—	0,93	2,00
45	Basedow	—	1,88	3,11

Lfd. Nr.	Klinische Diagnose	Hijmans van den Bergh		Jendrassik und Cleghorn
		direkt	indirekt	
46	Herzinsuffizienz	—	0,66	2,17
47	Myodegeneratio cordis . . .	(+)	0,63	2,40
48	Cholelithiasis.	(+)	1,74	3,00
49	„	(+)	0,52	1,90
50	Mitralinsuffizienz	(+)	1,45	6,00
51	Myodegeneratio cordis . . .	(+)	1,83	2,70
52	Magencarcinom	+	4,75	7,50
53	Pankreascarcinom	+	2,04	13,75
54	Lebercirrhose	+	1,60	3,00
55	Cholelithiasis.	+	3,40	8,00
56	Ikterussimplex	+	5,00	11,50
		—	0.29	2,30
57	Gallensteine	+	0,92	3,70
58	Ikterus	+	2,65	10,05
		(+)	0,54	3,70
		(+)	0,45	3,50
		—	0,37	1,33
		—	0,45	1,77
59	Ikterus	+	0,33	4,33
		(+)	0,30	1,96
		(+)	0,33	1,80
		—	0,38	1,34
		—	0,37	1,07
60	Ikterus	+	2,56	5,85
		+	1,90	9,80
		+++	8,40	13,40
		+++	5,70	16,50
		+++	5,52	18,00
61	Ikterus	++	2,40	6,50
		+	1,40	7,50
		+	2,28	6,45
		+	2,84	9,50
		+	6,80	11,00
			Operation	
		+	0,59	3,20
		+	2,60	9,00
		(+)	0,25	2,20
		—	0,21	1,70

Lfd. Nr.	Klinische Diagnose	Hijmans van den Bergh		Jendrassik und Cleghorn
		direkt	indirekt	
62	Ikterus	++	3,80	9,00
		++	3,60	7,70
		++	4,50	11,20
		++	3,78	16,90
63	Ikterus	++	5,90	11,00
64	Ikterus gravis	++	11,50	27,00
65	Ikterus catarrhalis	++	7,20	21,00
		++	1,98	7,30
		+	0,60	10,50
		+	0,70	3,60
		—	0,70	2,10
66	Ikterus gravis	+++	10,20	31,50
67	Ikterus gravis	++	4,10	13,00
68	Arsenverg. Lues, Ikterus . .	+++	3,88	9,55
		++	3,12	11,50
		+	3,40	13,50
		+	0,85	8,20
69	Kachexie	++	3,16	7,50
70	Ikterus catarrhalis	+++	15,60	21,50
		+	1,60	7,50

Wir haben die Fälle zusammengestellt ungefähr nach dem Grad des Unterschiedes zwischen beiden Bestimmungsmethoden. Nur ganz wenige sind es, bei denen die Werte fast gleiche Größen erreichen. Bei den normalen Fällen, also denjenigen, bei denen keine Leberschädigung vorliegt oder die Leber nur ganz wenig beteiligt ist, beträgt die Differenz 0,45 bis 0,90 mg%. Sind die Werte nach *Hijmans van den Bergh* nahe an 1,00 mg% oder darüber, so pflegen die Unterschiede im Durchschnitt anzuwachsen. Überraschend hohe Werte erreichen aber die Differenzen bei Ikterus. Es wird oft nur $^1/_2$ bis $^1/_4$ oder noch weniger nach *Hijmans van den Bergh* gefunden. Meist ist ja wenigstens die direkte Probe bei sonst schon normalen Werten noch positiv. Aus dieser Erfahrung heraus wurden, wie schon erwähnt, an der Schittenhelm'schen

Klinik von jeher beide Reaktionen bei jedem Kranken angestellt. Gar nicht selten kommt es aber vor, daß auch die direkte Reaktion schon ein negatives Ergebnis zeigt bei völlig normalem indirektem Bilirubin in Fällen, bei denen die neue Methode nach *Jendrassik* immer noch Werte von 1,5 bis 2,0 mg% und mehr finden läßt als Zeichen dafür, daß wohl eine starke Besserung eingetreten ist, aber immer noch eine Schädigung der Leber vorliegt und in der Therapie, Diät usw. noch Vorsicht geboten ist. Nr. 56 läßt dies mit aller Deutlichkeit erkennen, wobei hier die gefundenen Werte 0,29 nach dem einen und 2,3 mg% nach dem anderen Verfahren betragen. Aus Nr. 59 ist aus den Zahlen nach *Jendrassik* klar die organisch fortschreitende Besserung zu erkennen, während man aus denen nach *Hijmans van den Bergh*, die sich immer um 0,35 bewegen, gar nichts sehen kann. Die direkte Probe, die aber oft, besonders bei schwachem Ausfall, sehr vom subjektiven Empfinden abhängig und deshalb großen Fehlern unterworfen ist, läßt die immer noch bestehende Schädigung erkennen. In Nr. 60 ist nach *Jendrassik* die fortschreitende Verschlechterung des Zustandes klar und unzweideutig ersichtlich, während hier nicht einmal die direkte Probe Schlüsse für eine Vergrößerung der Gefahr ahnen läßt, ganz zu schweigen von den indirekten Werten, die eher an eine Besserung glauben lassen. Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse bei Nr. 68, wo der Ausfall des direkten Bilirubins eine Besserung vortäuscht, das indirekte zum mindesten nur einen gleichbleibenden Zustand dokumentiert, während aber die Jendrassik-Methode mit aller Deutlichkeit die fortschreitende Verschlechterung aufzeigt, ein Befund, der sich ganz mit dem klinischen Bild des Kranken deckte. Jede Schwankung des Gesamtserumbilirubins ist nach dem neuen Verfahren viel feiner zu erfassen, da ja auch durch Benützung des Stufenphotometers subjektive Ablesefehler weitgehend ausgeschaltet sind.

Die Vorteile der Methode sind zur Genüge dargetan und ohne weiteres aus dem Zahlenmaterial zu ersehen. Viel schwieriger dagegen ist die Frage zu entscheiden, woher die Differenzen kommen. Da bei dem einen Verfahren mit Alkohol enteiweißt wird, während

bei dem anderen eine Enteiweißung wegfällt, liegt ja der schon oft ausgesprochene Gedanke nahe, daß Bilirubin in dem Eiweißniederschlag enthalten ist. Dies läßt sich qualitativ ohne weiteres durch die Gmelinsche Probe nachweisen. Es ist im Niederschlag wenigstens zum Teil auch quantitativ nach Lösen desselben und Bestimmung nach *Jendrassik* zu erfassen. Die Adsorption hauptsächlich mit der Schwerlöslichkeit des Bilirubins im Alkohol zu erklären, wie *Thannhauser* und *Andersen* meinen, dürfte nicht allein richtig sein, da man ja dann keine Erklärung für die jeweils verschiedene Menge des niedergeschlagenen Bilirubins hätte.

Man könnte auch an ein verschiedenartiges Bilirubin denken. Diese Frage ist mehrfach diskutiert worden, ohne daß sich ein entscheidendes Ergebnis gezeigt hätte. *Heilmeyer* konnte spektrophotometrisch nachweisen, daß Veränderungen des Bilirubinmoleküls für den verschiedenen Ausfall der Diazoreaktion nicht verantwortlich gemacht werden können. Der Grund ist u. E. fast ausschließlich bei der Trägersubstanz des Bilirubins, nämlich dem Eiweiß, zu suchen.

Bennhold hat sich in einer geradezu klassischen Arbeit mit der Vehikelfunktion der Serumeiweißkörper befaßt. Er setzte eine steigende Naphtolgelbmenge zu gleichen Serummengen hinzu und konnte so das Farbstoffbindungsvermögen eines jeden Serums feststellen. Dabei fand er bei den meisten ikterischen Seren auch sehr hohe Albuminwerte und ein sehr hohes Farbstoffbindungsvermögen. Schon bei diesen Versuchen lag der Gedanke nahe, daß die Bilirubinhöhe in irgend einem Zusammenhang mit den Albuminen stehen könnte. Durch Elektrodialyse trennte er dann Albumine und Globuline und erbrachte den Beweis, daß nur die Albuminfraktion den Farbstoff genau so intensiv wie das komplette Serum zu binden imstande ist, während Globulinen dieses Vermögen vollkommen fehlt. Als *Bennhold* mit Bilirubin dieselben Versuche anstellte und dies zum Serum gab, konnte er nach Elektrodialyse finden, daß alles Bilirubin an Albumine gebunden war. Daraus zog er den Schluß, daß „im hochgradig ikterischen Serum also alles Bilirubin offenbar

quantitativ an die Serumeiweißkörper gebunden ist und zwar an die Albumine".

Schon im Jahre 1927 haben *Forrai* und *Sivo* die Behauptung aufgestellt, das Bilirubin hafte insgesamt am Serumeiweiß. Sie benutzten das Bechtoldsche Ultrafilter, mit dessen Hilfe man Bilirubin von Eiweiß trennen kann. Bei Ikterusserum und normalen Seren ging eine kleine Spur von Bilirubin durch das Filter, während Ikterusharn oder eine künstliche Bilirubinlösung in n/100 NaOH das Filter passiert. Den eindeutigen Beweis, daß Bilirubin tatsächlich nur am Albumin haftet, erbrachten dann *Pedersen* und *Waldenström* mit Hilfe der Ultrazentrifuge von *The Svedberg* und durch Bestimmung des isoelektrischen Punktes. Die Sedimentationskonstante des zentrifugierten Bilirubins im Serum stimmten immer sehr gut mit derjenigen des Serumalbumins überein und der isoelektrische Punkt lag bei 4,8, was mit dem isoelektrischen Punkt des Pferdeserumalbumins sehr gut übereinstimmt. Das Bilirubin zeigt aber nicht zu jedem Albumin dieselbe Affinität, sondern lediglich zum Serumalbumin.

Wie man aus oben angeführten Beispielen (in Tabelle I) ersehen kann, sind die Unterschiede zwischen beiden Bilirubinwerten nach *Hijmans van den Berg* und *Jendrassik* besonders groß beim hepatogenen Ikterus und erreichen die höchsten Werte beim abklingenden Ikterus.

Schon *Vogel* und *Zins* haben die Feststellung gemacht, daß Serum beim abklingenden Ikterus noch lange Zeit einen stark grüngefärbten Trichloressigsäurerückstand zeigt, also einen erhöhten Bilirubinwert, während die Hijmans van den Bergh'sche Methode längst schon normale Werte ergibt. *Weltmann* und *Jost* geben neben der Bestimmung des Gesamtbilirubins noch eine zweite Methode an, die über die Menge des der Adsorption entgehenden Bilirubins Aufschluß gibt. Diese Methode ist im Prinzip die Hijmans van den Bergh'sche, in der Thannhauser'schen Modifikation. Als Zusatz verwenden sie Ammoniulsulfat in feinpulverisierter Form, weil dadurch „die Auspressung des Bilirubins aus dem Eiweiß vollständig erfolge". Den Unterschied zwischen Gesamtbilirubin und nicht ad-

sorbierbarem Bilirubin nennen sie Adsorptionswert (A. W.). Sie finden ebenfalls, daß bei abklingendem Ikterus oft ganz exzessive Werte vorkommen.

Wenn wir unsere Ergebnisse anders ausdrücken wollen, so heißt dies, daß bei abklingendem Ikterus am meisten Bilirubin nach *Hijmans van den Bergh* in den Eiweißniederschlag gelangt, also dieses Eiweiß eine besondere Bindungsfähigkeit für das Bilirubin besitzen muß. Um dafür den Beweis zu erbringen, versetzten wir verschiedene Seren mit der gleichen Menge Galle als Bilirubinlieferanten. Wir bestimmten vorher den Prozentsatz des Bilirubins von der Galle und von dem Serum nach *Hijmans van den Bergh*. Dann wurden 0,5 ccm von jedem genommen und gemischt. Normalerweise sollte dann, wenn das Serumeiweiß nichts an sich bindet, nach der Mischung die Hälfte der Summe gefunden werden. In Tabelle II sind die Versuche zusammengestellt.

Tabelle II.

Nr.	mg % der Galle indirekt	mg % des Serums		Diagnose	gef. mg % der Mischung	ber. mg % der Mischung
		direkt	indirekt			
1	8,50	—	0,28	Cystopyelitis	4,40	4,39
2	8,50	—	0,54	Veramonvergiftung	4,40	4,52
3	8,50	—	0,14	Urämie	3,70	4,32
4	8,50	+++	6,28	Ikterus	5,30	7,39
5	16,80	(+)	0,42	Abkl. Ikterus	4,80	8,61
6	16,80	(+)	0,73	„ „	4,32	8,76
7	16,80	+	3,65	Cholecystopath.	4,32	10,22
8	16,80	(+)	0,87	Cholelithiasis	4,00	8,83
9	22,00	(+)	0,33	Abkl. Ikterus	5,40	11,16
10	34,00	+	1,02	„ „	7,00	17,51
11	34,00	—	0,63	„ „	6,00	17,31

Aus dieser Tafel geht klar hervor, daß tatsächlich das Eiweiß und, wie wir nach den Untersuchungen *Bennholds* annehmen müssen, nur das Serumalbumin bei katarrhalischem Ikterus und

besonders bei abklingendem Ikterus eine spezielle Affinität zu Bilirubin hat. Denn wir fanden meist nur die Hälfte von dem zugesetzten Bilirubin der Galle, der andere Teil wurde in dem Eiweißniederschlag mitgerissen. Jedenfalls ist aber die Tatsache auffallend, daß sich nicht etwa jedes Serum gleich verhält, sondern daß eben das Serum bei Ikterus (abgesehen vom haemolytischen Ikterus), und besonders bei abklingendem Ikterus, sich deutlich von den anderen abhebt. Die hohe Bindungsfähigkeit hängt aber sicher nur zum allergeringsten Teil mit der Gesamtmenge des vorhandenen Eiweißes bzw. Albumins zusammen, wenn auch nach *Bennhold* bei Ikterus gewöhnlich auch die Albumine erhöht sind; denn für die Bindung der doch verhältnismäßig geringen Menge zugesetzten Bilirubins hätte in jedem Fall ein großer Überschuß von Albumin zur Verfügung gestanden, da ja die Bindungsfähigkeit für Bilirubin ungefähr 85 mg % beträgt. *Weltmann* und *Jost* glauben, daß das Bilirubin bei abklingendem Ikterus durch besonders hohe Adsorptionsfähigkeit ausgezeichnet sei und daß es in einer durch sein physikalisches Verhalten charakterisierten Form vorliege. Das würde also heißen, daß es eine andere chemische Konstitution aufweist, als gewöhnliches Bilirubin. Wir aber suchen den Hauptgrund vielmehr in einer qualitativen Veränderung der Vehikelsubstanz, nämlich des Serumalbumins.

Wenn wir aber eine solche Behauptung aufstellen, so sind wir uns wohl bewußt, daß bei dem gegenwärtigen Stand der Kenntnis über die Eiweißkörper heute kaum ein scharfer Beweis dafür zu erbringen ist. Denn wir erwarten auch gar nicht, daß es sich um Veränderungen handelt, die mit unseren heutigen Meßmethoden erfaßt werden könnten, etwa mit NH_2-Bestimmung nach *van Slyke* oder COOH-Bestimmung nach *Willstätter* oder Methoxylbestimmung, wie sie *Felix* und *Dirr* zur Charakterisierung der Molekulargröße beim Clupein angewandt haben. Schon geringfügige Änderungen im Bau des Moleküls haben große physikalisch-chemische und besonders auch kolloidchemische Änderungen im Gefolge, Änderungen von einer Größenordnung, die hinsichtlich der Bausteinanalyse meist noch im Bereich der Fehlerquellen liegen. Eine Be-

stimmung der Bausteine führt hier kaum eindeutig zum Ziel, wie wir aus anderen Untersuchungen bei der Klärung der Takatareaktion, die erst veröffentlicht werden sollen, sehen konnten. Trotz dieser nicht gerade ermutigenden Kenntnis ist hier ein Weg aufgezeichnet, wie die physiologische und chemische Forschung weitergehen muß, um einen Einblick gerade in die Trägersubstanz im Serum, die Albumine und Globuline, zu bekommen. Die Wichtigkeit dieses Problems erhellt immer mehr, besonders wenn man bedenkt, daß gerade diese Substanzen weitaus den größten Anteil im Organismus darstellen, wenn man weiterhin sich vor Augen stellt, daß gerade die Eiweißkörper sehr oft den Träger darstellen für Fermente, Vitamine und Hormone, deren Wirkung oft fest an diese Körperklasse geknüpft ist.

Wenn also die Eiweißkörper je nach dem Krankheitszustand verschiedene Kräfte für die Bindung des Bilirubins aufweisen, müssen wir uns zunächst die Frage vorlegen, wie man sich diese Bindung überhaupt vorstellen kann. Wir kennen einen Vorgang, bei dem an Kolloid in reichstem Maße und auch mehr oder weniger fest andere Stoffe, z. B. Wasser, gebunden werden können. Hier pflegen wir von der Quellung zu sprechen, wobei das Quellungsmittel in das Innere des quellenden Körpers zwischen seine Bausteine hineindringt und dort durch irgendwelche Bindungskräfte an die Bausteine des quellenden Körpers gebunden wird, ohne dabei die Kohäsionen zwischen den Bausteinen aufzuheben. Da die Kolloide eine Mittelstellung zwischen hochdispersen und grobdispersen Körpern darstellen, beherrschen hier bei der Quellung molekularchemische wie auch kapillarchemische Wirkung die Vorgänge. Die Flüssigkeit kann einmal nur an der Oberfläche der Mizellen adsorbiert werden, was man nach *Katz* intermizellare Quellung bezeichnet, oder die Flüssigkeit kann auch in das Innere der einzelnen Mizellen eindringen und durch Hydration oder auch durch chemische Wirkung gebunden werden. Diese Quellung wird intramizellare Quellung genannt. Man kann sich vorstellen, daß in ersterem Fall das Quellungsmittel weniger fest haftet als in letzterem, also auch viel leichter zu beeinflussen ist. Die wichtigsten Vorgänge, die die

Quellung beeinflussen, sind die Art der Quellungsflüssigkeit, die Art und Konzentration der in der Quellungsflüssigkeit gelösten Stoffe, der Dispersitätsgrad des quellenden Körpers, die relative Menge des quellenden Körpers und die Temperatur. Von besonderem Interesse und verhältnismäßig noch am besten untersucht, ist der Einfluß der gelösten Stoffe auf die Quellung. Die ersten Untersuchungen darüber stellt *Hofmeister* an. Er fand, daß jede Säure, Base und jedes Neutralsalz zu einer charakteristischen Wasseraufnahme führt. Einmal ist sie gefördert, ein anderes Mal gehemmt. Diese „Hofmeister'schen Reihen" haben für die Biologie große Bedeutung erlangt, da man bei Organen ähnliche Quellungsunterschiede feststellen kann, wenn man diese Reihe auf sie einwirken läßt.

Ähnlich wie das Quellungs- oder Hydrationswasser an das Eiweiß gebunden ist, stellen wir uns auch die Bindungsverhältnisse des Bilirubins an das Serumalbumin vor. Wir werden also je nach der Eiweißart ein fester oder weniger fest gebundenes Bilirubin unterscheiden können. Wenn wir uns aber diese Vorstellung zu eigen machen, so müßte man auch, ähnlich wie z. B. beim Quellungswasser, eine Entquellung herbeiführen können, d. h. also auf das Bilirubin übertragen, eine Lösung der Bilirubin-Albuminbindung. Neben vielen anderen Möglichkeiten kann dies durch Salzzugabe erzwungen werden. Bei lyophilen Systemen muß mehr Salz zur Anwendung kommen, bei lyophoben genügt schon eine geringe Menge. Die Entquellung stellt u. E. den ersten Schritt der Denaturierung vor.

Aus diesen Überlegungen heraus stellten wir folgende Versuche fest. Bekanntlich löst sich Bilirubin sehr leicht in Chloroform. Man sollte also erwarten, daß man durch Ausschütteln mit Chloroform ohne weiteres dem Serum das Bilirubin entziehen könnte. Dies gelingt aber nicht. Wenn man Ikterusserum ganz kurze Zeit mit Chloroform behandelt, färbt sich das Chloroformextrakt kaum gelb. Erst bei längerem Schütteln wird die Färbung intensiver, weil sich Chloroform im Serum sehr stark löst und dadurch eine Denaturierung, in unserem Fall also eine Freisetzung von Bilirubin,

stattfindet. Nach *Moore* und *Roaf* löst sich Chloroform bis zu 11 % im Serum, während die Löslichkeit in Wasser nur 0,95 % beträgt. Verdünnte man das Serum etwa mit dem gleichen Volumen Wasser und extrahiert dann mit Chloroform, so blieben die Verhältnisse ungefähr genau so wie vorher. Ein wesentlich anderes Ergebnis bekommt man aber, wenn man statt des destillierten Wassers mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Nunmehr läßt sich das Bilirubin fast quantitativ ausschütteln, d. h. die Bindung zwischen Albumin und Bilirubin ist gelöst. Mit steigender Salzkonzentration wird die Bilirubintrennung erhöht, wie man aus folgenden Versuchen ersehen kann. Es wurden 1,5 ccm Serum mit 15 ccm Wasser und 7,5 ccm Chloroform versetzt und jeweils eine halbe Minute ausgeschüttelt. Das Chloroform wurde durch Zentrifugieren aus der Serumverdünnung entfernt und in der überstehenden Flüssigkeit das Bilirubin bestimmt. Nach jedem Versuch wurden wieder 16,5 mg Kochsalz in fester Form zugegeben und dann wieder die Ausschüttlung vorgenommen.

Einige Versuche sind in nachstehender

Tabelle III

wiedergegeben.

NaCl — Zusatz	Bilirubin mg % nach Chloroform-extrakt	NaCl — Zusatz	Bilirubin mg % nach Chloroform-extraktion
0	1,53	0	1,10
0,1	1,52	0,1	0,99
0,2	1,50	0,2	0,62
0,3	1,32	0,3	0,50
0,4	1,52	0,4	0,73
0,5	1,36	0,6	0,49
0,6	1,27	0,6	0,26
0,7	1,25		
0,8	1,17		
0,9	1,15		

Bekanntlich muß bei hohen Bilirubinwerten verdünnt werden, um noch ablesen zu können. Die Verdünnung geschieht entweder beim Serum schon vorher mit physiologischer Kochsalzlösung oder beim Azofarbstoff nachher mit Alkohol. Auch hier findet man nach der Hijmans van den Bergh-Methode oft, wenn auch nicht immer, erhebliche Differenzen. Wir führen nur ein Beispiel an: direkt ++, indirekt nach Verdünnung des Serums mit physiologischer Kochsalzlösung 12,6 mg%.

Man sieht hier deutlich den Einfluß der Salzkonzentration, der in einem „Abhängen" des Bilirubins von Eiweiß besteht. Rein empirisch haben *Weltmann* und *Jost* bei ihrer Bestimmungsmethode Ammoniumsulfat zugegeben, ohne sich aber über die wirklichen Gründe der quantitativen Bilirubinerfassung im klaren zu sein. Selbstverständlich hat auch die Art des zugesetzten Mittels einen besonderen Einfluß auf die Bindung, wie schon *Bennhold* in seiner Arbeit gezeigt hat. Diese Versuche konnten wir leider vorerst nur an katarrhalischem Ikterus durchführen, da uns nur einmal ein einwandfreier haemolytischer Ikterus zur Verfügung stand und für größere Untersuchungen nicht genügend Serum vorhanden war.

Zwangsläufig muß man nach diesen Ergebnissen auch zur Frage des direkten Bilirubins Stellung nehmen; denn es muß sich auch hier darum handeln, wie groß die Haftfestigkeit des Bilirubins ist, da auch bei hochgradig ikterischem Serum alles Bilirubin quantitativ an die Serumeiweißkörper gebunden ist *(Bennhold)*. Es muß also auch hier wenigstens ein Teil des Bilirubins leichter abgetrennt werden können. Bekanntlich wird bei Anstellung der direkten Probe mit physiologischer Kochsalzlösung versetzt und dann vorsichtig mit Diazomischung überschichtet. An der Berührungszone bildet sich der Farbring. Nach unserer Anschauung ist also durch die Salzzugabe eine Trennung zwischen Bilirubin und Albumin eingetreten und nunmehr kann die Diazomischung auf das freie Bilirubin einwirken. Das wäre eine einfache Erklärung für das Zustandekommen des direkten Bilirubins. Mischen wir aber statt des Kochsalzes mit destilliertem Wasser und geben dann die Diazoniummischung hinzu — es ist stets im Vergleich zum Bilirubingehalt an der Berührungsschicht

ein Überschuß! —, so tritt bei Ikterusserum auch eine positive Reaktion ein. Es genügt offenbar schon das Diazoniumsalz, um Bilirubin frei zu machen.

Man müßte also bei haemolytischem Ikterus, bei dem ja bekanntlich die direkte Probe negativ ausfällt, ein positiv direktes Bilirubin erzwingen können, wenn man durch Änderung der Kochsalzkonzentration bzw. durch Zugabe irgend eines anderen Salzes oder einer Säure die offenbar feste Albumin- Bilirubinbindung trennen kann. Wie gesagt, stand nur ein einziges Mal ein haemolytischer Ikterus (Tafel I, Nr. 41) zur Verfügung. Wir möchten besonders auf den hohen Bilirubingehalt nach *Jendrassik* und den großen Unterschied zwischen den Ergebnissen beider Methoden hinweisen. Wir versuchten daher mit einem Serum eines Herzkranken, das direkt negativ war und indirekt einen Bilirubingehalt von 1,33 mg % aufwies, der Klärung dieser Frage näher zu kommen. Versetzten wir statt mit physiologischer Kochsalzlösung mit 2 %iger, so trat deutlich positive Reaktion ein, die freilich merkwürdigerweise bei 3, 4 und 5 % Kochsalz wieder ausblieb. Höhere Konzentrationen von Kochsalz bewirken eines Ausflockung des Eiweißes. Ein ähnlicher Fall von direkt negativ, indirekt 0,93 mg % zeitigte folgende Ergebnisse: Bei 1 % (+), 2 % (+), 3 % (+), 4 % (+), 5 % ±—, 6 % +—, 7 % +—.

Die Konstitution des Bilirubins ist durch die Untersuchungen von *H. Fischer* vollständig aufgeklärt. Durch die Arbeit von *H. Fischer* und *Haberland* ist auch die Kupplungsreaktion mit Diazoverbindungen festgelegt und als Spaltungsreaktion erkannt worden, derart, daß beim mittelständigen Methanbrücken-C-Atom die Spaltung des Moleküls herbeigeführt wird. Hier findet dann auch die Kupplung zum Azofarbstoff statt. Daraus können wir schließen, daß an dieser Stelle auch die Bindung zum Albumin erfolgen muß und die Diazoreaktion nur dann eintreten kann, wenn diese Bindung gelöst wird. Daß eine solche Bindung tatsächlich vorhanden ist, kann man aus den interessanten Untersuchungen von *Lauersen* und *Sauerbruch* entnehmen. Diese konnten durch Zugabe von Ascorbinsäure zu einem Ikterusserum erreichen, daß dieses

vorher prompt Diazoreaktion gebende Serum dadurch Diazo-negativ wurde. Sie führen dieses Ergebnis auf eine Blockierung der kuppelnden Gruppen des Bilirubins zurück, also auf eine Blockierung des mittelständigen Methan-Brücken-C-Atoms. Welche Gruppe sich aber beim Eiweißmolekül an der Bindung beteiligt, kann noch gar nicht gesagt werden; denn es ist sehr schwer, am Eiweißmolekül Veränderungen vorzunehmen, ohne daß eine Denaturierung, wenn auch geringsten Grades, eintritt.

Es können die vorliegenden Untersuchungen nicht abgeschlossen werden, ohne auf die verschiedenartigen Befunde bei haemolytischem Ikterus und Ikterus catarrhalis einzugehen. Ganz allgemein hat sich der Begriff durchgesetzt von hepatogenem und haematogenem oder anhepatischem Bilirubin. Bei letzterem ist charakteristisch, daß kein Bilirubin im Urin auftritt und daß die Gelbfärbung der Haut und der Skleren nur sehr gering ist. Die direkte Reaktion ist trotz hohen Bilirubingehaltes negativ, dagegen ist das im Eiweiß mitgerissene Bilirubin, wie aus den Bestimmungen nach beiden Methoden ersichtlich ist, außerordentlich stark (Tabelle I, Nr. 41). Beim Ikterus catarrhalis und überhaupt beim sogenannten hepatogenen Ikterus sehen wir starke Gelbfärbung von Haut und Sklerem und Auftreten von Bilirubin im Urin, wenn eine gewisse Grenze überschritten ist. Diese wechselt allerdings beim einzelnen Kranken sehr stark.

Nach unserer Meinung liegen die Gründe in der Hauptsache im Eiweißmolekül, das zu Bilirubin eine starke Affinität hat; aber es besteht nur eine geringe Haftfestigkeit zwischen den beiden, so daß die Möglichkeit gegeben ist, daß diese Bindung leicht wieder gelöst werden kann. Man kann sich den Vorgang so ähnlich vorstellen wie beim Haemoglobin, das eine große Affinität zu Sauerstoff besitzt, diesen aber auch wieder als Oxyhaemoglobin abstoßen kann im Gegensatz zum Methaemoglobin mit seiner festen Sauerstoffbindung. Es ist auch ganz zweckmäßig, daß dieses locker gebundene Bilirubin in der Niere leicht abgehängt werden kann, da es doch in größerer Konzentration einen störenden Faktor im Blut darstellt. Vielleicht genügt hier, daß in der Niere unter Um-

ständen eine, wenn auch geringfügige, Veränderung der Ionen-Konzentration vorliegt. Ebenso leicht könnte nur durch eine Ionenänderung in den Kapillaren ein Abhängen dieses locker gebundenen Bilirubins erklärt werden, womit dann für das freie Bilirubin die Möglichkeit gegeben wäre, durch die Wandung der Kapillaren in das Gewebe der Haut und Skleren durchzudringen.

Ganz anders liegen die Verhältnisse bei dem extrahepatischen Bilirubin. Dieses ist so fest an das Eiweißmolekül gebunden, daß geringfügige Ionenänderungen des Milieus nicht imstande sind, diese Bindung zu lösen. Es stellt also, als Ganzes betrachtet, ein sehr großes Molekül (Eiweißbilirubin) dar, das weder durch das Nierenfilter, noch durch das Kapillarfilter treten kann. Es ist zu verstehen, daß *Duesberg* sogar die Frage aufwirft, ob es ein Bilirubinoglobulin gebe, was aber durch die Untersuchungen von *Petersen* und *Waldenström* widerlegt werden konnte. Eine Beobachtung, die wir vor Beginn dieser Arbeit bei einem haemolytischen Ikterus machen konnten, scheint nun mit unseren Erklärungsversuchen nicht in Einklang gebracht werden zu können. Der Kranke kam bei stets negativem direkten Bilirubin zur Milzexstirpation und schlagartig wandelte es sich nun in dreifach positives direktes Bilirubin um. Auch *Herhaus* konnte bei mehreren Kranken dieselbe Feststellung machen und er gibt gleich zu Beginn seiner Arbeit eine Erklärung dafür ab, die wir nicht von der Hand weisen möchten: „Das physiologische und pathologische Verhalten von Milz und Leber zu einander läßt die Auffassung zu, daß beide Organe in gewissem Sinn eine funktionelle Einheit bilden und zwar scheint die Einwirkung der Milz sich nicht nur auf das R.E.S. der Leber, sondern auch auf die Leberzellen selbst zu beziehen." Darnach käme es also im Anschluß an die Milzexstirpation doch zu einer Leberschädigung und damit zu einer Umbildung des Eiweißmoleküls.

Das normale Serumeiweiß hält das Bilirubin sehr fest. Beim haemolytischen Ikterus liegt eine normale Eiweißkomponente vor, da ja primär wenigstens die Leber nicht geschädigt ist. Auch bei Herzkrankheiten sehen wir oft zu Beginn negatives direktes

Bilirubin bei indirekten Werten von 1,5 bis 2,0 mg%. Die Leber ist vorerst noch vollkommen intakt und erst bei längerer Störung im kleinen Kreislauf kommt es dann zur Leberschädigung und damit zu einer teilweise fehlerhaften Umbildung des Eiweißes und als Ausdruck dafür zu direkt positivem Bilirubin. Beim hepatogenen Ikterus steht von vornherein ein mehr oder weniger starker Leberschaden im Mittelpunkt und als erste Erscheinung hierfür ein positiv direktes Bilirubin, was für uns das Zeichen der gestörten Eiweißumbildung ist. Direkt positives Bilirubin weist also nicht auf eine Änderung des Bilirubinmoleküls hin, sondern stellt lediglich ein feines Reagens für eine Leberschädigung in Richtung Eiweißumbau dar. Gleichzeitig betrachten wir diese Ergebnisse als indirekten Beweis dafür, daß tatsächlich die Leber mit dem Eiweißumbau in sehr engem Zusammenhang steht.

Zusammenfassung.

1. Die Methode nach *Jendrassik* und *Cleghorn* zur Bestimmung des Gesamtbilirubins im Serum stellt die Methode der Wahl dar, weil sie tatsächlich das gesamte Bilirubin erfaßt.

2. Die Gründe für die Ursachen der oft großen Differenz zwischen dem Bestimmungsverfahren nach *Hijmans van den Bergh* einerseits und *Jendrassik* und *Cleghorn* andererseits liegen in der Hauptsache darin, daß nach *Hijmans van den Bergh* Bilirubin in wechselnder Menge im Eiweißniederschlag mitgerissen wird.

3. Die Affinität zwischen Bilirubin und Albumin wechselt mit der qualitativen Veränderung des Albumins. Sie ist am stärksten bei hepatogenem Ikterus und bleibt auch bei abklingendem Ikterus noch unverändert bestehen.

4. Auch die Haftfestigkeit zwischen Bilirubin und Albumin hängt eng zusammen mit der qualitativen Veränderung des Albumins. Sie ist bei normalem Albumin, also auch bei anhepatischem Ikterus, am stärksten und bei hepatogenem Ikterus und auch noch bei abklingendem am geringsten.

5. Diese Bindung kann je nach der Stärke der Haftfestigkeit

mehr oder weniger leicht gelöst werden. Bei geringer Haftfestigkeit genügt schon Salzzugabe, also Ionenänderung, bei stärkerer kann diese Lösung wenigstens zum Teil durch Alkohol erzwungen werden, zum Teil tritt eine gewisse Stabilisierung in der Bindung zwischen Albumin und Bilirubin bei Denaturierung durch Alkohol ein.

6. Mit diesem verschiedenen Grad der Haftfestigkeit dürfte auch die direkte Bilirubinprobe nach *Hijmans van den Bergh* zusammenhängen. Geringe Haftfestigkeit bedeutet direkt positiv (hepatogener Ikterus), starke direkt negativ (hämatogener Ikterus).

7. Direkt positives Bilirubin stellt also lediglich ein feines Reagens auf eine Leberschädigung in Richtung Eiweißumbau dar.

8. Es wird versucht, die klinischen Erscheinungen bei hepatogenem und anhepatischem Ikterus auf Grund der verschiedenen Haftfestigkeit des Bilirubins am Albumin, also auf Grund der qualitativen Veränderungen im Eiweißmolekül zu erklären.

Am Schlusse der Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, für die gütige Überlassung des Themas und die Übernahme des Referats Herrn Professor Dr. A. Schittenhelm meinen ergebensten Dank abzustatten.

Mein besonderer Dank gilt außerdem dem Leiter des chemischen Laboratoriums der II. Medizinischen Klinik, Herrn Dr. K. Dirr, für die liebenswürdige Anleitung und Unterstützung bei Anfertigung der Arbeit.

Schrifttum

Adler und *Strauß:* Z. exp. Med. 44, 43, 1924.
Andrewes: Dancet, I, 590, 1924.
Bennhold: Erg. inn. Med. u. Kinderh. 42, 273, 1932.
Chrometzka: Z. exp. Med. 67, 475, 1929.
— Z. exp. Med. 67, 482, 1929.
Duesberg: Neunyn-Schmiedeberg, Arch. 174, 305, 1934.
Enriquez und *Sivó:* Bioch. Zt. 169, 152, 1926.
Ernst und *Förster:* Magy. orv. Arch. 27, H. 5, 1926.
Felix und *Dirr:* Z. physiol. Chem. 205, 83, 1931.
H. Fischer und *Haberland:* Z. physiol. Chem. 232, 246, 1935.
Forrai und *Sivó:* Bioch. Zt. 189, 162, 1927.
Heilmeyer und *Krebs:* Bioch. Zt. 223, 352, 1930.
Herhaus: Münch. med. Wochenschr. 84, 1807, 1937.
Hijmans van den Bergh und *Grotepaß:* Brit. med. Journ. 3834, 1157, 1934.
— Der Gallenfarbstoff im Blut. Leipzig, Johann Ambrosius Barth 1918, sowie Handb. der biol. Arbeitsmeth. v. Abderhalden, 4, 4, 2.
Hofmeister: Arch. exp. Med. 28, 210, 1891.
Jendrassik und *Czike:* Z. exp. Med. 60, 554, 1928.
— — D. med. Wochenschr. 11, 1928.
Jendrassik und *Cleghorn:* Bioch. Z. 289, 1, 1936
— — Bioch. Zt. 289, 438, 1937.
— — Klin. Wochenschr. 52, 1936.
Katz I. R.: Physik. Z. 25, 321, 659, 1924.
Lauersen und *Sauerbruch:* Klin. Wochenschr. II, 1137, 1936.
Meulengracht: D. Arch. Klin. Med. 137 (1921).
Moore und *Roaf:* Proc. roy. Soc. Med. 73, 382, 1904 u. 77, 86, 1905.
Pedersen und *Waldenström:* Z. physiol. Chem. 245, 152, 1937.
Thannhauser und *Andersen:* D. Arch. f. klin. Med. 137, 1921.
Vogel und *Zins:* Med. Klin., H. 28, 1922.
Weltmann und *Jost:* Med. Klin., H. 29, 1928.
— — D. Arch. f. klin. Med. 161, 203, 1928.

Lebenslauf

Nikolaus Sereslis ist geboren am 22. Februar 1904 zu Petra Mytilene-Griechenland als Sohn des Aristides Sereslis und seiner Ehefrau Helene Sereslis, geb. Eleftheriadou. Er besuchte die Volksschule in Petra, anschließend das Gymnasium zu Mytilene, wo er am 15. Juni 1922 die Reifeprüfung ablegte. Er studierte an der Universität zu Athen Medizin, legte 1923 die ärztliche Vorprüfung ab und 1931 das Staatsexamen. 1931 bis 1932 war er zur weiteren Ausbildung an der Universität Paris. 1932 bis 1934 war er tätig an der I. Medizinischen Klinik der Universität Athen. 1935 ging er zu seiner weiteren Fortbildung nach München, wo er seither an der II. Medizinischen Klinik tätig ist.